

Eficiência de nodulação e fixação de nitrogênio por rizóbios em leguminosas arbóreas de interesse para revegetação de áreas degradadas pela atividade de mineração de carvão em Criciúma, SC

Shantau Camargo Gomes Stoffel⁽²⁾; Ginaini Grazielli Doin de Moura⁽³⁾; Rafael Dutra de Armas⁽⁴⁾; Nestor Cubas Wendt⁽⁵⁾; Edenilson Meyer⁽⁶⁾; Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares⁽⁷⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq).

⁽²⁾ Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Catarina, bolsista PIBIC/CNPq, Florianópolis, SC – shantau1@gmail.com ⁽³⁾ Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Catarina, bolsista ITI-A/CNPq, Florianópolis, SC – gi_grazielle@hotmail.com; ⁽⁴⁾ Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico e Industrial/CNPq pela Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC - rafadut@gmail.com; ⁽⁵⁾ Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC – nestor_pelca@hotmail.com; ⁽⁶⁾ Graduando em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Catarina, bolsista Permanência, Florianópolis, SC - edenilsonmeyer@hotmail.com; ⁽⁷⁾ Professor de Microbiologia pela Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC - crfsoares@gmail.com.

RESUMO O carvão mineral é uma importante reserva energética nacional. No entanto, a atividade pode ocasionar a perda de solo fértil, erosão e drenagem ácida, poluindo água e solo. Uma das alternativas para a recuperação dessas áreas é a revegetação utilizando-se, principalmente, leguminosas arbóreas de crescimento rápido. Ainda que sejam descritas as principais espécies vegetais para revegetação destas áreas, pouco se conhece sobre a associação com rizóbios, os quais podem estimular o crescimento dessas plantas. Desta forma, esse trabalho tem como objetivo selecionar rizóbios da rizosfera de leguminosas arbóreas de crescimento rápido e avaliar a eficiência dos isolados na promoção do crescimento vegetal de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de carvão em Criciúma, SC. Para tanto, nódulos foram isolados do solo rizosférico de acácia negra, maricá e bracatinga de uma área degradada por mineração de carvão em Criciúma, SC. Bracatinga, maricá e angico vermelho foram selecionadas para revegetação e a eficiência simbiótica dos rizóbios selecionados avaliada pela produção de massa seca de nódulos, número de nódulos, teor de nitrogênio na biomassa e nitrogênio total acumulado. Os isolados avaliados apresentaram eficiência de nodulação em bracatinga, maricá e angico vermelho. No entanto, a fixação de nitrogênio foi eficiente em bracatinga e maricá, quando comparado com o controle com aplicação de nitrogênio, o que não foi observado em angico vermelho. Pelos resultados obtidos pode-se concluir que a inoculação de maricá e bracatinga com rizóbio é uma alternativa viável para revegetação de áreas degradadas por mineração de carvão em Criciúma, SC.

Termos de indexação: bactérias fixadoras de nitrogênio; *Mimosa scabrella* Benth.; *Mimosa bimucronata* (DC) Kuntze.

INTRODUÇÃO

A atividade de mineração de carvão representa uma das principais fontes de geração de energia no Brasil. Apesar da importância no cenário nacional, as atividades mineradoras podem causar efeitos negativos nas características físicas, químicas e biológicas do solo, água e ar.

A deposição inadequada dos resíduos da atividade de mineração de carvão afeta negativamente a vegetação devido à perda de solo fértil, o que provoca erosão, além de problemas relacionados à disponibilidade de água, biota do solo, suprimento de nutrientes importantes às plantas e fenômenos como drenagem ácida, a qual ocorre em função da oxidação da pirita (FeS_2), presente nos resíduos da mineração de carvão (SIQUEIRA et al., 2008). Esse processo leva à formação de ácido sulfúrico (H_2SO_4), o que ocasiona poluição de águas superficiais e subterrâneas, além da acidificação do solo (AMARAL e KREBS, 2008).

Com o intuito de recuperar essas áreas, uma das alternativas é o processo de revegetação, no qual, geralmente, utilizam-se espécies leguminosas (Leguminosae) arbóreas de crescimento rápido. Estas plantas possuem potencial de associação simbiótica, fornecendo nutrientes aos solos extremamente pobres, o que leva a ciclagem dos mesmos. A biomassa vegetal produzida é incorporada ao solo, onde, pela ação de microrganismos, aumenta o estoque de carbono no solo, possibilitando o estabelecimento de novas espécies vegetais. Esta sucessão atua como berçário para novas espécies de organismos. O processo de revegetação minimiza processos erosivos, além de reduzir os impactos visuais da degradação.

No entanto, na maioria dos solos degradados há carência de nutrientes, em especial de nitrogênio, o

que, muitas vezes, limita o estabelecimento da vegetação. Desta forma, é interessante que as espécies vegetais utilizadas na revegetação dessas áreas apresentem capacidade de associação com microrganismos fixadores de nitrogênio (SIQUEIRA et al, 2008).

Simbioses radiculares são de suma importância para o estabelecimento da vegetação em locais extremos, no entanto, devido ao fato de a exploração da fixação biológica de nitrogênio ser influenciada pela especificidade entre os simbioses (planta e bactérias), muitas pesquisas tem sido desenvolvidas com o intuito de selecionar estirpes eficientes na fixação biológica de nitrogênio para as espécies de leguminosas arbóreas.

Entretanto, uma dificuldade que se enfrenta a a partir da seleção dos microrganismos simbioses e inoculação em espécies arbóreas de interesse, diz respeito a introdução destas plantas à campo, onde, em decorrência da competição com a população autóctone de rizóbios e da baixa adaptação às condições locais, muitas vezes o estabelecimento dos rizóbios inoculados é dificultada e, como consequência, o estabelecimento das espécies vegetais comprometida (CARVALHO et al., 2003).

Desta forma, é importante o isolamento e seleção de rizóbios autóctones das áreas degradadas, eficiência simbiótica de bactérias autóctones, pois, teoricamente, são mais adaptados às condições locais, o que facilitaria o seu estabelecimento.

Esse trabalho tem como objetivo selecionar rizóbios da rizosfera de leguminosas arbóreas de crescimento rápido e avaliar a eficiência dos isolados na promoção do crescimento vegetal de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas pela atividade de mineração de carvão em Criciúma, SC.

MATERIAL E MÉTODOS

Em área da extinta ICC (Indústria Carboquímica Catarinense), situada no extremo Sul de Santa Catarina, no município de Criciúma, foram coletadas amostras de solo rizosférico de acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild), maricá (*Mimosa bimucronata* (DC) Kuntze) e bracinga (*Mimosa scabrella* Benth), espécies arbóreas selecionadas na área de estudo, em 5 pontos equidistantes, à profundidade entre 0 e 10 cm.

As amostras foram transportadas em caixa de isopor com gelo até o Laboratório de Microbiologia do Solo – UFSC. Em seguida, um experimento foi montado em casa de vegetação, em vasos-armadilha, com o intuito de isolar bactérias fixadoras de nitrogênio capazes de nodular leguminosas. Assim, 50 g de solo foram adicionados em tubetes com capacidade de 300 cm³. A planta-isca utilizada

foi o feijão caupi (*Vigna unguiculata*). As sementes foram desinfestadas com imersão em hipoclorito 2 % por 2 minutos e lavadas 6 vezes em água destilada estéril (Hungria et al., 1997). O experimento foi mantido por 60 dias, com irrigações diárias e, a cada 5 dias, efetuou-se a aplicação de solução nutritiva de HOAGLAND e ARNON (1950), sem nitrogênio.

Visando isolar rizóbios, foram coletados nódulos das plantas-isca, os quais foram desinfestados com imersão em álcool 95 % por 20 segundos, hipoclorito 2 % por 2 minutos, formol 5 % por 2 minutos e lavados seis vezes em água destilada estéril. Os nódulos foram macerados e plaqueados em meio YMA (VINCENT, 1970) a 28 °C por até 14 dias. Os isolados obtidos foram autenticados quanto à capacidade de nodulação em caupi, cultivado em tubetes com areia e vermiculita autoclavados (2:1), adicionando 2 mL de inóculo sobre as sementes.

A produção do inóculo se deu por repique dos isolados em meio YMA líquido (Vincent, 1970) e incubação a 28 °C por 24 horas.

Após 60 dias, os tubetes foram desmontados e a autenticação foi avaliada pela presença ou pela ausência de nódulos.

Os isolados obtidos foram nomeados conforme o local em que foram coletados. Assim, os isolados iniciados com a letra A foram isolados da rizosfera de acácia negra, os isolados com B foram isolados da rizosfera de bracinga e os isolados iniciados com M foram obtidos a partir de solo rizosférico de bracinga.

Os isolados autenticados, além de sete isolados da Embrapa, utilizados como referência (BR3437, BR3470, BR3454, BR3461, BR9002, BR2811 e BR827), foram inoculados em três espécies de leguminosas arbóreas: *Mimosa bimucronata* (DC) Kuntze, *Mimosa scabrella* Benth e *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan, com o intuito de avaliar a eficiência dos rizóbios no estímulo do crescimento das espécies arbóreas selecionadas. Outros dois tratamentos-testemunha, sem nitrogênio e com aplicação contendo nitrogênio foram utilizados no experimento (HOAGLAND e ARNON, 1950).

O experimento foi montado em casa de vegetação, em tubetes contendo areia e vermiculita na proporção de 1:3. Após 90 dias, o experimento foi desmontado e a eficiência simbiótica avaliada pela matéria seca de nódulos, secos em estufa de circulação forçada, a 65 °C por 7 dias e pelo número de nódulos. A eficiência de acúmulo de nitrogênio foi avaliada pela quantificação do nitrogênio na biomassa vegetal e pelo nitrogênio total acumulado.

O teor de nitrogênio na biomassa e o nitrogênio total acumulado foram analisados conforme metodologia descrita por TEDESCO et al. (1995) para análise de nitrogênio em tecidos vegetais.



Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA, com aplicação do teste Scott Knott, utilizando o programa Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos dados obtidos para número de nódulos, os melhores resultados quanto ao maricá foram obtidos com o isolado BR3461, porém, bons resultados também foram obtidos com o isolado M4 e BR3454. Para bracinga, um maior número de nódulos foi observado com a inoculação dos isolados BR3437, M4, B8 e B2 (figura 1). Para angico vermelho, os melhores resultados foram obtidos com a inoculação dos isolados M7, BR3470 e M8.

Para o peso de nódulos, os melhores resultados em maricá foram observados com a inoculação dos isolados M8, B5, B12, BR3461 e BR3437. Para bracinga, os melhores resultados foram obtidos com a inoculação dos isolados B17, B6, B16, B11, B9, M7 e B8 (figura 1), ao passo que os melhores resultados de peso seco de nódulos para o angico vermelho foram obtidos com a inoculação dos isolados B11 e B16.

Não foram verificados nódulos nos tratamentos testemunha sem nitrogênio e com nitrogênio mineral (Figura 1).

Apesar da eficiência de nodulação nas três espécies arbóreas avaliadas, estes resultados não são suficientes para comprovar o efeito aditivo no estímulo do crescimento vegetal.

Desta forma, a análise de nitrogênio é fundamental, sendo possível observar que, para maricá, os melhores resultados de teor de nitrogênio da biomassa foram obtidos para as plantas inoculadas com M4, B1, BR3437, BR827 e o tratamento com nitrogênio (C/N). Já para bracinga, os isolados B6, B9, M9, BR3437, B11, B16, B2, B17, B8, além do tratamento C/N foram os mais eficientes (figura 2). Para angico vermelho, os melhores resultados foram obtidos com os isolados M7, B4, B6, B8, M5, B3.2 e B2, além do tratamento C/N.

Quanto ao N acumulado, que indica mais do que a eficiência da simbiose quanto à fixação biológica de nitrogênio, mas leva em consideração a promoção do crescimento vegetal e o ganho de matéria seca das plantas, os melhores resultados para o maricá foram obtidos com os isolados BR3437 e B12. Quanto à bracinga, os melhores resultados para N acumulado foram obtidos com os isolados BR3437, B16, B2, B9, B11 e B8 (figura 2). Para angico vermelho, os melhores resultados foram obtidos com o tratamento com nitrogênio mineral, evidenciando que não houve acréscimo no estímulo

do crescimento vegetal desta espécie quando inoculada com as bactéria selecionadas.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados é possível concluir que a inoculação de maricá e bracinga com os rizóbios selecionados da área de mineração é uma alternativa viável para a revegetação de áreas degradadas por mineração de carvão em Criciúma, SC.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa proc. 561819/2010-6, à Embrapa Agrobiologia pelo fornecimento das bactérias referência e ao Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas (IPAT) da UNESC pelo apoio logístico na coleta das amostras de solo.

REFERÊNCIAS

AMARAL, J.E.; KREBS, A.S.J. Drenagem ácida da mineração de carvão e sua interrelação com metais pesados e recarga de aquíferos na bacia carbonífera do estado de Santa Catarina. Anais do XVI congresso brasileiro de águas subterrâneas e XVII encontro nacional de perfuradores de poços. Natal – RN, Brasil, 2008.

CARVALHO, F.G. Variabilidade de Isolados de Estirpes de *Bradyrhizobium* spp. recomendadas para cultura da soja. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2003. 104 p.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Circular**, 1950. 347p.

SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SILVA, C.A. Matéria orgânica em solos de áreas degradadas. In: SOARES, P.S.M.; SANTOS, M.D.C.; POSSA, M.V. **Carvão Brasileiro: Tecnologia e Meio Ambiente**. Rio de Janeiro: CETEM, 2008. 289p.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; ISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS-Departamento de Solos, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5)



XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC

4

VINCENT, J.M.A. Manual for the Pratical Study of root-nodule bactéria. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164p. (International biological programme handbook, 15).

|

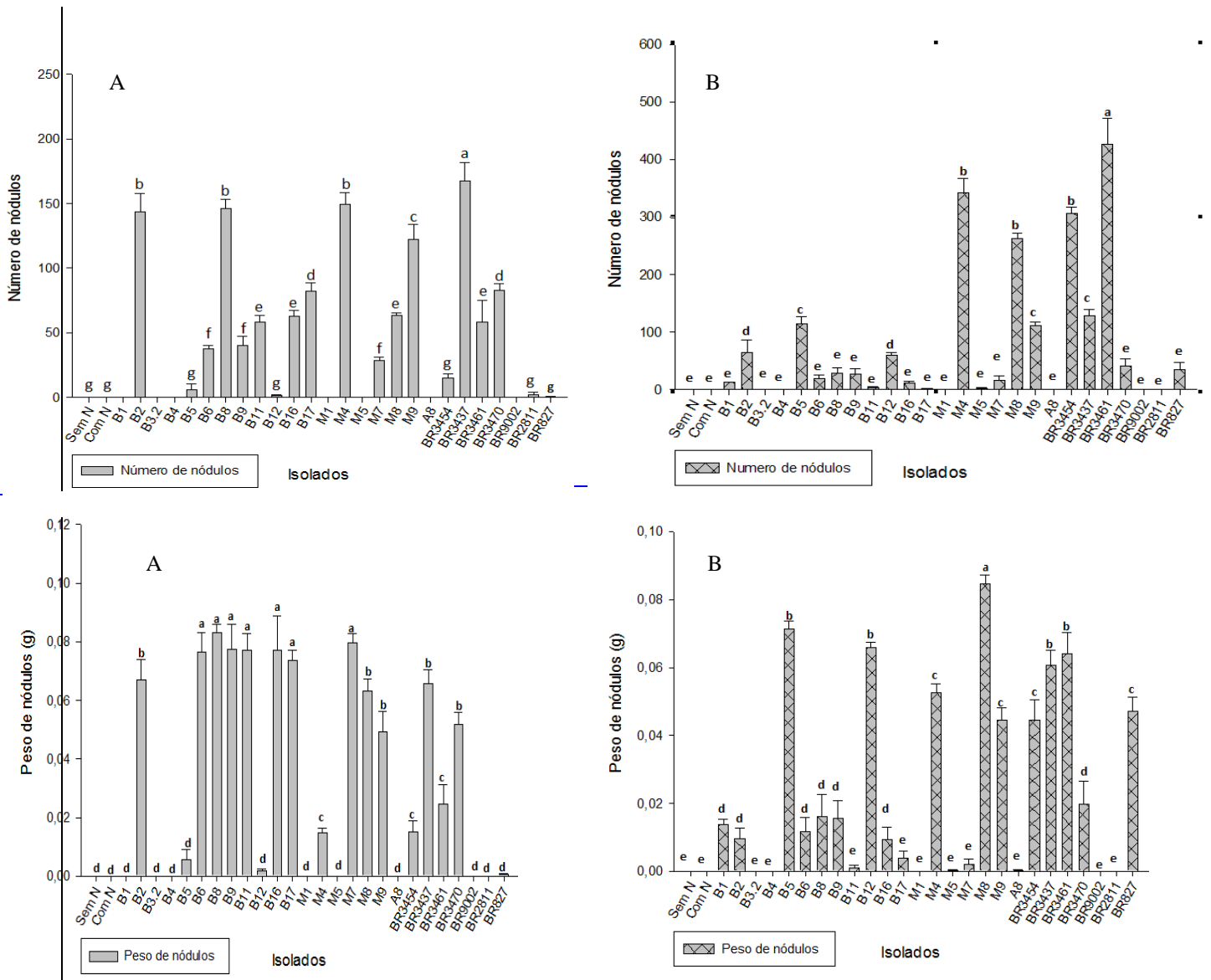


Figura 1 – Número e peso de nódulos em bractatinga (A) e maricá (B).

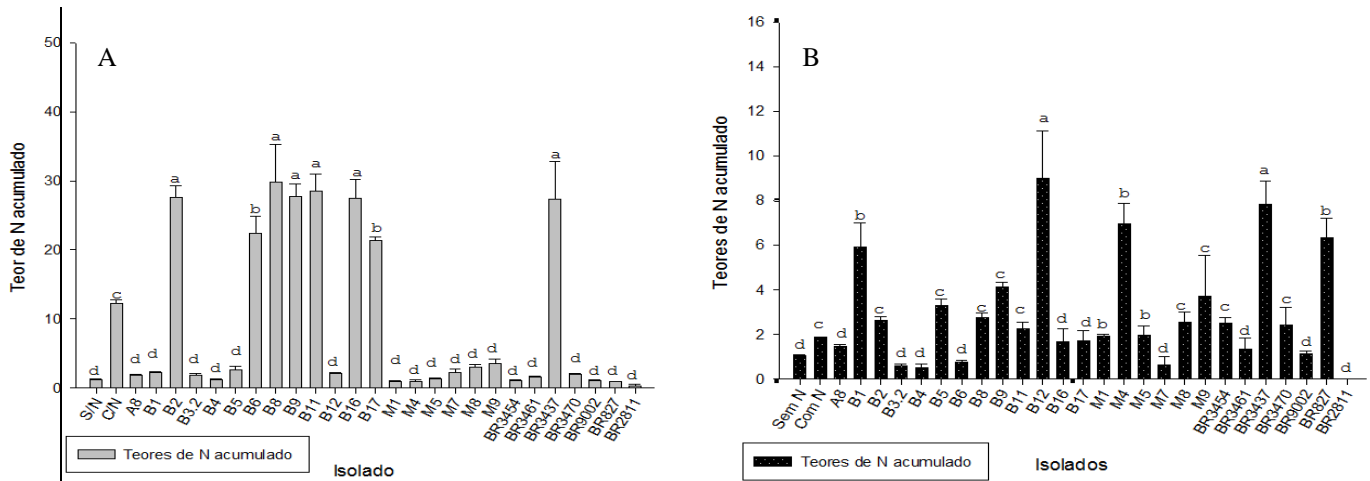


Figura 2 – Teor de nitrogênio total acumulado (mg) em bractatinga (A) e maricá (B).



XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC

|